

Visceral Protease Activity of Short Bodied Mackerel (*Rastrelliger* Sp.) at Different pH and Salt Concentrations

By

M Andesba Arifin¹), Bustari Hasan²) and Desmelati²)

Abstract

This research was conducted in the Laboratory of Biochemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, University of Riau and Department of Public Works Riau Province in November 2011 to March 2012. This study aimed to evaluate visceral protease activity of short bodied mackerel at different pH and salt concentration. Mackerel weighing ± 150 g/each were obtained from a fish market in Pekanbaru. Fish were transported to the laboratory; and at the laboratory, the fish were eviscerated and their visceral organs (intestines, kidneys, liver, spleen, cord, pancreas and gonad) were blended in buffer Tris-HCl and filtered for their crude extract. The protease activity was measured at pH 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10.0 and 11.0 and salt concentration 0%, 3%, 6%, 9%, 12% and 15%. The results showed that the protease activity varies with pH value and salt concentration. Protease activity at pH 11.0 showed the highest activity. The protease activity decreased with increasing salt concentration.

Keywords: mackerel, visceral, protease.

¹Students of the Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau
²lecturer at the Faculty of Fisheries and Marine Science, University of Riau

Pendahuluan

Produk perikanan memiliki peranan sangat penting, tidak hanya sebagai sumber protein hewani tetapi juga sebagai sumber enzim dan bioaktif yang memiliki karakteristik dan spesifikasi tertentu yang dapat digunakan dalam berbagai industri. Enzim yang berasal dari hasil perikanan telah banyak digunakan dalam industri, baik pangan maupun non pangan di Indonesia. Penggunaan enzim tersebut dalam industri pangan misalnya adalah dalam pembuatan keju, dekstrin, gula cair, sari buah, susu, daging, bir dan minyak dan dalam industri non pangan adalah dalam penyamakan kulit, pembuatan pasta gigi,

pembuatan sabun, kosmetika dan farmasi (Nurhasanah, 2006).

Isi perut ikan merupakan sumber protease yang mudah dan murah untuk digunakan dalam hidrolisis protein (Gildberg *et al.*, 2002; Kristinsson and Rasco, 2000). Isi perut ikan sangat potensial digunakan sebagai sumber protease, karena dalam perut ikan terdapat organ pencernaan tempat protein dihidrolisis yang mengandung banyak protease. Protease dari isi perut ikan yang sudah dilaporkan, misalnya: proteinase dari isi perut ikan cryfish (Kim *et al.*, 1992; Kim *et al.*, 1994), ikan digfish (Ramakrishna *et al.*, 1987), ikan mackerel (Kim and Pyeun, 1986) dan

dari limpa tuna (Klomklao *et al.*, 2004). Protease yang terdapat dalam isi perut ikan sangat bervariasi, bergantung pada jenis makanan dan spesies ikan itu sendiri. bahkan dari jenis ikan yang sama, protease yang berbeda (jumlah dan jenisnya) terdapat dalam setiap organ yang berlainan dari isi perutnya (Torrison, 1984).

Enzim yang berasal dari hasil perikanan telah menarik perhatian para peneliti karena potensi dan keanekaragaman sumber seperti, habitat dan lingkungan yang menghasilkan keragaman sifat dan karakteristik enzim tersebut yang dapat diaplikasikan dalam berbagai industri (Prasertsan dan Prachumratana 2008). Enzim chymotrypsin yang diisolasi dari ikan kod atlantik (*Gadus morhua*) dan pepsin dari ikan kod (*Breogadus saida*) misalnya telah digunakan dalam produksi keju (Brewer *et al.*, 1984). Enzim trypsin yang diisolasi dari ikan kod (*Gadus agar*) untuk menghasilkan asam amino yang berbeda (Simpson dan Haard, 1984). Aktivitas enzim protease dan lipase yang tinggi juga dilaporkan pada enzim yang diisolasi dari organ dalam ikan tuna oleh Prasertsan dan Prachumratana (2008).

Ikan kembung merupakan salah satu spesies yang tertangkap sepanjang tahun dalam jumlah yang relatif besar di sebagian besar perairan Indonesia. Ikan ini merupakan jenis yang cepat membusuk yang ditandai dengan pecahnya perut ikan (*belly bursting*) sehingga harganya relatif murah. Pecahnya perut ikan ini setelah ditangkap diduga akibat aktivitas enzim isi perut ikan tersebut yang tinggi setelah ikan mati (Hasan, 2008). Tingginya aktivitas enzim isi

perut ikan ini diduga juga sebagai penyebab kenapa jenis ikan tersebut menghasilkan mutu peda yang baik bila diolah menjadi fermentasi peda. Sepengetahuan penulis, belum ada informasi tentang aktivitas enzim protease isi perut ikan kembung. Berdasarkan alasan tersebut diatas, penulis tertarik meneliti aktivitas enzim protease dari isi perut ikan kembung untuk mendapatkan data dasar sebagai pemanfaatan enzim tersebut lebih lanjut.

Tujuan dan Manfaat

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas enzim protease isi perut ikan kembung pada pH dan kadar garam berbeda. Penelitian ini merupakan penelitian awal untuk memperoleh data dasar dalam pemanfaatannya enzim tersebut dalam industri makanan, obat-obatan dan kosmetika.

Metode Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2011 sampai Maret 2012 di Laboratorium Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau dan Laboratorium Unit Pelaksana Teknis Pengujian Dinas Pekerjaan Umum Provinsi Riau.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah isi perut ikan kembung yang terdiri dari usus, ginjal, hati, limpa, jantung, pankreas dan gonad. Bahan-bahan yang digunakan dalam bahan-bahan untuk penentuan aktivitas enzim yaitu: garam, es batu, buffer Citrate-phosphate buffer (pH 6.0), Tris-HCl (pH 7.0-9.0), Carbonate-Bicarbonate buffer (pH 10.0-11.0), Casein, Tirosin, Trichloroacetid acid 10%, NaOH 0.25 M, HCl 1 N dan aquades.

Alat-alat yang digunakan terdiri dari peralatan penelitian yang meliputi pisau, talenan, baskom, timbangan digital dan blender, pH meter, vacum, tabung buchner, tabung reaksi, pipet mikro, pipet tetes, kertas saring *whatman* no. 1, stopwatch, gelas ukur dan peralatan gelas lainnya, sentrifus, inkubator, vortex, Alat untuk penentuan aktivitas enzim yaitu spektrofotometer UV-Visibel panjang gelombang 280 nm.

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen yaitu menentukan aktivitas enzim protease dari isi perut ikan kembung pada konsentrasi garam dan pH berbeda. Rancangan yang digunakan rancangan acak lengkap. Penelitian dibagi 2 tahap. Tahap pertama identifikasi aktivitas enzim pada pH berbeda pH 6.0, 7.0, 8.0, 9.0, 10,0 dan 11,0) dan tahap

kedua identifikasi enzim pada kadar garam berbeda (0%, 3%, 6%, 9%, 12% dan 15%.) dengan menggunakan pH optimum enzim yang didapat pada penelitian pertama.

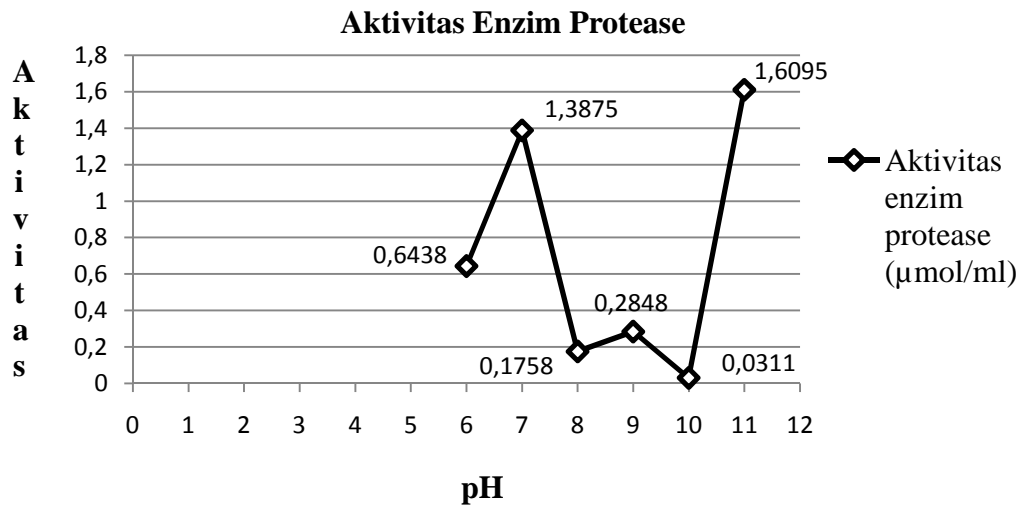
Hasil dan Pembahasan

Aktivitas enzim protease isi perut ikan kembung pada berbagai pH (6.0-11.0) disajikan pada Tabel 2 dan Gambar 4. Aktivitas enzim protease sangat bervariasi terhadap pH. Uji statistik juga menunjukkan bahwa aktivitas enzim protease juga sangat dipengaruhi oleh pH ($p < 0.05$). Aktivitas enzim tertinggi berlangsung pada pH 11.0 dimana aktivitasnya adalah 1,6095 $\mu\text{mol/ml}$; kemudian diikuti oleh pH 7.0, pH 6.0, pH 9.0, pH 8.0 dan pH 10.0, dengan aktivitas enzim berturut-turut adalah 1,3875 $\mu\text{mol/ml}$, 0,6438 $\mu\text{mol/ml}$, 0,2848 $\mu\text{mol/ml}$, 0,1758 $\mu\text{mol/ml}$ dan 0,0311 $\mu\text{mol/ml}$.

Tabel. 1. Aktivitas Enzim Protease pada Berbagai pH

No.	pH	Nilai Aktivitas Enzim Protease ($\mu\text{mol/ml}$)
1	6	0,6438 \pm 0,0148500 ^d
2	7	1,3875 \pm 0,0063501 ^e
3	8	0,1758 \pm 0,0000577 ^b
4	9	0,2848 \pm 0,0017616 ^c
5	10	0,0311 \pm 0,0006028 ^a
6	11	1,6095 \pm 0,0049689 ^f

Ket = rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama berarti tidak berbeda nyata



Gambar. 1. Aktivitas Enzim Protease pada Berbagai pH Berbeda

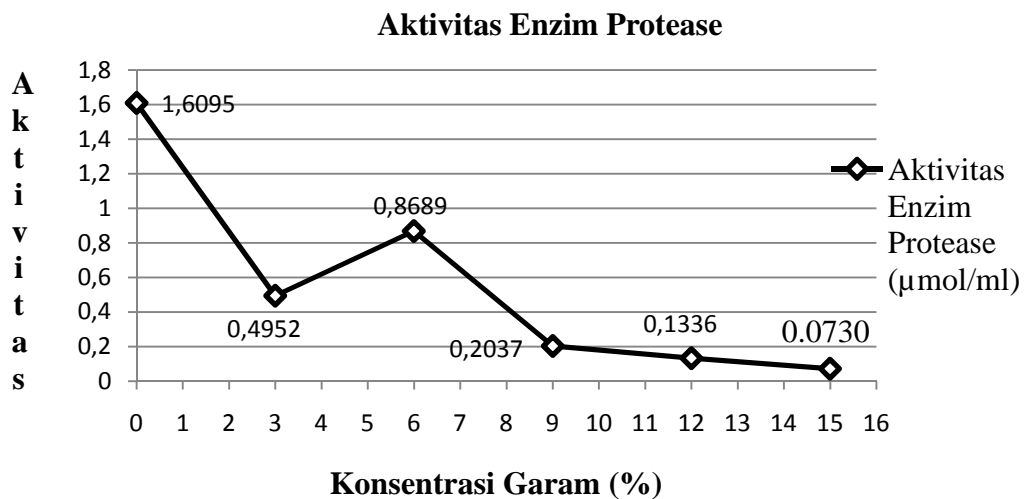
Aktivitas enzim protease pada kadar garam berbeda (0%-15%) disajikan pada Tabel 3 dan Gambar 5. Aktivitas enzim maksimum pada kadar garam ($p < 0.05$). Aktivitas enzim yang tertinggi sampai yang terendah berturut-turut adalah

konsentrasi garam 0%, 6%, 3%, 9%, 12% dan 15% dimana aktivitasnya pada konsentrasi garam tersebut berturut-turut adalah 1,6095 µmol/ml, 0,8689 µmol/ml, 0,4952 µmol/ml, 0,2037 µmol/ml, 0,1336 µmol/ml dan 0,0730 µmol/ml.

Tabel 2. Aktivitas Enzim Protease Pada Kadar Garam Berbeda

No.	Kadar Garam (%)	Nilai Aktivitas enzim protease (µmol/ml)
1	0	1,6095 ± 0,0046058 ¹
2	3	0,4952 ± 0,0035501 ^d
3	6	0,8689 ± 0,0064000 ^e
4	9	0,2037 ± 0,0007000 ^c
5	12	0,1336 ± 0,0000577 ^b
6	15	0,073 ± 0,0001000 ^a

Ket = rata-rata yang ditandai dengan huruf kecil yang sama berarti tidak berbeda nyata



Gambar. 2. Aktivitas Protease Pada Konsentrasi Garam Berbeda

Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa aktivitas enzim protease isi perut ikan kembung (*Rastrelliger* sp.) dipengaruhi oleh pH dan aktivitas yang tertinggi adalah pada pH 11.0 diikuti oleh pH 7.0, pH 6.0, pH 9.0, pH 8.0 dan pH 10.0. Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi garam; aktivitas yang tertinggi adalah pada konsentrasi garam 0% dan diikuti oleh kadar garam 6%, 3%, 9%, 12% dan 15%.

Saran

Untuk penelitian selanjutnya disarankan: 1) Aktivitas enzim protease masing-masing organ isi perut ikan (hati, limpa, pankreas dan lambung), 2) Pengaruh suhu, pH, kadar garam terhadap aktivitas enzim masing-masing organ tersebut.

Ucapan Terima Kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada dosen pembimbing yang telah memberikan petunjuk dan arahan dalam penelitian

ini sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir tepat pada waktunya.

Daftar Pustaka

- Brewer, P., Helbig, N., & Haard, N. F. 1984. Atlantic cod pepsin Characterization and use as a rennet substitute. *Canadian International Food Science and Technology Journal*, **17**, 38-43.
- Gildberg, Asbjorn., Arnesen, J. A., Carleho, G, M. 2002. Utilisation of cod backbone by biochemical fractionation. *Process Biochemistry* **38**, pp 475-480.
- Hasan, B. 2008. Pengaruh Penyilangan dan Suhu Fermentasi Terhadap Pematangan Peda Kembung (*Restrelliger neglectus*). *Jurnal perikanan dan kelautan*. 1,13:104-117.
- Kim, H. R. and Pyeun, J. H. 1986. The Proteinase Distributed In The Intestinal Organs of Fish ii. Characterization of the three alkaline proteinase from the Pyloric Caeca of Mackarel (*Scomber japonicus*). *Bull. Korean fish. Soc.* **19**:547-557.

- Kim, H. R., Meyers, S. P., Godber, J.S. 1992. Purification and Characterization of Anionic Trypsin From The Hepatopancreas of Crayfish (*Procambarus clarkii*). *Comp. Biochem. physiol.* **103B**:391-398.
- Kim, H. R., Meyers, S. P., Godber, J.S. 1994. Enzymatic Properties of Anionic Trypsin from The Hepatopancreas of Crayfish (*Procambarus clarkii*). *Comp. Biochem. Physiol.* **107B**:197-203.
- Klomklao, S., Benjakul, S. and Viseeanguan, W. 2004. Comparative Studies on Proteolytic Activity of Splenic Extract From Three Tuna Species Commonly Used in Thailand. *Journal of Food Biochemistry*, **28**:355-372.
- Kristinsson, H. G. And Rasco, B. A. 2000. Fish Protein Hydrolysates: Production, Biochemical, and Functional. *Critical Reviews In Food Science and Nutrition*. **40**(1):43-81.
- Nurhasanah, 2006. *Isolasi Enzimlipase dari Bakteriisolat Lokal Yang Hidup di Air Laut Labuhan Panjang*. Prosiding Seminar Hasil Program Pengembangan Diri Bidang Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Prasertsan, P and Prachumratana, T. 2008. Comparison and selection of protease and lipase sources from visceral organs of three Tuna species. *Songklanakarin Journal Science. Technol.* **30**, 73-76.
- Ramakrishna, M., Hultin, H.O., Atallah, M.T. 1987. A Comparison of Dogfish and Bovine Chymotrypsins In Relation to Protein Hydrolysis. *Journal. food science.* **52**:1198-1202.
- Simpson, B. K., & Haard, N. F. 1984. Trypsin from Greenland cod as a food processing aid. *Journal of Applied Biochemistry*, **6**,135-143.
- Torrissen, K. R. 1984. Characterization of Proteases In the Digestive Tract of Atlantic Salmon (*Salmo aolar*) In Comparison With Rainbow Trout (*Salmo gairdneri*). *Chomparative Biochemistry an Physiology Part B.* **77**:669-674.

